

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11)

EP 1 072 686 A3

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:
28.01.2004 Patentblatt 2004/05

(51) Int Cl.⁷: **C12Q 1/68**

(43) Veröffentlichungstag A2:
31.01.2001 Patentblatt 2001/05

(21) Anmeldenummer: **00109388.9**

(22) Anmeldetag: **03.05.2000**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: **05.05.1999 DE 19920611**

(71) Anmelder: **Roche Diagnostics GmbH
68298 Mannheim (DE)**

(72) Erfinder:
• **Mueller, Manfred W., Prof. Dr.
3400 Klosterneuburg (AT)**
• **Schmidt, Wolfgang M., Dr.
1030 Wien (AT)**

(54) Verfahren zur 5'-Cap-abhängigen Anreicherung von cDNAs

(57) Der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Modifikation, Klonierung und Amplifikation von an ihrem 5' Ende vollständigen cDNAs, welches im wesentlichen dadurch gekennzeichnet ist, daß die Erststrang-cDNA-Synthese in Gegenwart von Mangan²⁺-Ionen durchgeführt wird oder Mangan²⁺ zeitlich versetzt als Additiv zugesetzt wird. Ausgelöst durch die CAP-Struk-

tur am 5'-Ende der revers transkribierten mRNA werden deoxy-Cytosine mit hoher Effizienz an das 3'Ende der cDNA angefügt. In einer bevorzugten Ausführungsform wird im Anschluß an die Erststrang-cDNA Synthese mithilfe von Terminaler Transferase ein kontrolliertes Ribonukleotid-Tailing durchgeführt.



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 10 9388

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betreff Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
X	ROTH M J ET AL: "PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF MURINE RETROVIRAL REVERSE TRANSCRIPTASE EXPRESSED IN ESCHERICHIA-COLI" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 260, Nr. 16, 1985, Seiten 9326-9335, XP002261876 ISSN: 0021-9258 * Seite 9331, Spalte 1, letzter Absatz - Seite 9331, Spalte 2, letzter Absatz * * Zusammenfassung * --- WO 98 48053 A (EPICENTRE TECHNOLOGIES CORP) 29. Oktober 1998 (1998-10-29) * Seite 4, Zeile 20 - Seite 5, Zeile 31; Ansprüche 1-9; Beispiel 1 * --- SCHMIDT WOLFGANG M ET AL: "Controlled ribonucleotide tailing of cDNA ends (CRTc) by terminal deoxynucleotidyl transferase: A new approach in PCR-mediated analysis of mRNA sequences" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, Bd. 24, Nr. 9, 1996, Seiten 1789-1791, XP002261877 ISSN: 0305-1048 * Zusammenfassung * --- US 5 407 800 A (GELFAND DAVID H ET AL) 18. April 1995 (1995-04-18) * Ansprüche 1-17 * --- -/	1-16	C12Q1/68
Y		1-16	RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int.Cl.7) C12Q
Y		1-16	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort		Abschlußdatum der Recherche	Prüfer
MÜNCHEN		25. November 2003	Stachowiak, O
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmelde datum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 10 9388

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betreift Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
A	AMARA RAMA RAO ET AL: "Specific polyadenylation and purification of total messenger RNA from Escherichia coli" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, Bd. 25, Nr. 17, 1997, Seiten 3465-3470, XP002162145 ISSN: 0305-1048 * Zusammenfassung * ---	1-16	
T	EP 0 921 196 A (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) 9. Juni 1999 (1999-06-09) * Zusammenfassung * -----	1-16	
RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int.Cl.7)			
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
MÜNCHEN	25. November 2003	Stachowiak, 0	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 9388

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

25-11-2003

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9848053	A	29-10-1998	US	6030814 A		29-02-2000
			AU	743907 B2		07-02-2002
			AU	7142398 A		13-11-1998
			CN	1261406 T		26-07-2000
			EP	0977891 A1		09-02-2000
			JP	2000513585 T		17-10-2000
			WO	9848053 A1		29-10-1998
<hr/>						
US 5407800	A	18-04-1995	US	5322770 A		21-06-1994
			US	4889818 A		26-12-1989
			AT	151112 T		15-04-1997
			AU	656315 B2		02-02-1995
			AU	7244491 A		24-07-1991
			CA	2071213 A1		23-06-1991
			DE	69030386 D1		07-05-1997
			DE	69030386 T2		09-10-1997
			DK	506889 T3		22-09-1997
			EP	0506889 A1		07-10-1992
			ES	2100945 T3		01-07-1997
			GR	3023862 T3		30-09-1997
			JP	2968585 B2		25-10-1999
			JP	5505105 T		05-08-1993
			US	5310652 A		10-05-1994
			WO	9109944 A2		11-07-1991
			US	5618703 A		08-04-1997
			US	5641864 A		24-06-1997
			US	5693517 A		02-12-1997
			US	5561058 A		01-10-1996
			US	5795762 A		18-08-1998
			US	5466591 A		14-11-1995
			AT	169337 T		15-08-1998
			AU	681387 B2		28-08-1997
			AU	6329694 A		01-09-1994
			AU	646430 B2		24-02-1994
			AU	7176491 A		24-07-1991
			CA	2071196 A1		23-06-1991
			DE	69032543 D1		10-09-1998
			DE	69032543 T2		15-04-1999
			DK	506825 T3		03-05-1999
			EP	0506825 A1		07-10-1992
			ES	2121777 T3		16-12-1998
			JP	2790448 B2		27-08-1998
			JP	9224682 A		02-09-1997
			JP	2774192 B2		09-07-1998
			JP	5504887 T		29-07-1993
			SG	46627 A1		20-02-1998

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 9388

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

25-11-2003

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5407800	A	WO 9109950 A1 US 5618711 A US 5789224 A AT 135741 T AU 3062989 A AU 632857 B2 AU 6391090 A DE 68926038 D1 DE 68926038 T2 DE 395736 T1 EP 0395736 A1 HK 166096 A	11-07-1991 08-04-1997 04-08-1998 15-04-1996 11-08-1989 14-01-1993 10-01-1991 25-04-1996 17-10-1996 03-09-1992 07-11-1990 13-09-1996
EP 0921196	A 09-06-1999	US 6399320 B1 EP 0921196 A1 EP 0922765 A1 JP 11225786 A US 2002160399 A1	04-06-2002 09-06-1999 16-06-1999 24-08-1999 31-10-2002